

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

⑯ 日本国特許庁 (JP)  
⑰ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開  
昭59—130820

⑤Int. Cl.<sup>3</sup>  
A 61 K 37/30  
9/00

識別記号  
厅内整理番号  
7138—4C  
7057—4C

④公開 昭和59年(1984)7月27日  
発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 7 頁)

④表面活性剤含有組成物による鼻内部へのカルシトニン吸収の促進

⑦発明者 マセツタ・エイ・ハンソン  
アメリカ合衆国ニューヨーク州  
タツカホーコンスレート・ドライブ1

②特 願 昭58—244931

⑩出願人 アーマー・ファーマシューティカル・カンパニー  
アメリカ合衆国ニューヨーク州  
テリータウン・サウス・ブロードウェイ303

優先権主張 ③1982年12月29日③米国(US)

⑪代理人 弁理士 川瀬良治 外1名

③454128  
⑦発明者 ダニエル・マウソン  
アメリカ合衆国ニューヨーク州  
シールズ・ヒルサイド・ドライブ24

明細書

1. [発明の名称]

表面活性剤含有組成物による鼻内部へのカルシトニン吸収の促進

5. 上記媒質がそのミリリットル当たり約5乃至約150μg

のカルシトニンを含む特許請求の範囲第1項から4項までのいづれかに記載の組成物。

2. [特許請求の範囲]

1. カルシトニンの治療有効量と表面活性剤を含む鼻内部投与に適する水性又は非水性媒質より成ることを特徴とする骨代謝作用の病気治療用製薬組成物。

6. 約0.01乃至約10%の表面活性剤を含む特許請求の範囲第1項から5項までのいづれかに記載の組成物。

2. 更に緩衝剤を含む特許請求の範囲第1項に記載の製薬組成物。

7. 上記緩衝剤がりん酸塩緩衝剤である特許請求の範囲第2項に記載の組成物。

3. 上記緩衝剤が0.01乃至0.5M濃度である特許請求の範囲第2項に記載の組成物。

8. 上記水性媒質がゲルである特許請求の範囲第1項から8項までのいづれかに記載の組成物。

4. 更に酸化防止剤、安定剤、強直性調節剤、粘性賦与剤又は保存剤を含む特許請求の範囲第1項から3項迄のいづれかに記載の組成物。

9. 上記表面活性剤がジカルボキシル化脂肪性イミダゾリ

ン又はナトリウム タウロコレイト又はベンザルコニウム クロライドである特許請求の範囲第1項から9項までのいづれかに記載の組成物。

## 3. [発明の詳細な説明]

本発明はカルシトニンを患者に投与する新方法および鼻に投与するに適する調合物に関する。

カルシトニンは人や鶏などのちがつた種類のちがつた組織から分離された又は合成によつてえられたペプチドホルモンである。カルシトニンは上皮小体機能亢進症、幼時特発過カルシウム血症、ヴィタミンD中毒、および骨軟化骨転移をもつ患者の過カルシウム血症の軽減と血漿りん酸塩濃度の減少に有効と認められている。直接骨膜効果と胃腸管への作用が認められているがカルシトニンの骨に対する効果が最もよく知られている。その使用は例えはページェット病における様な骨格吸収増加や骨異常生成を抑制する病気に有効とわかつている。

カルシトニンの投与は主として注射によるが、従来は特に局部治療のために他の投与法が使われていた。医師によ

プロプロラノロールの様な小分子は鼻内部に有効に吸収されるが、カルシトニンの様な大分子は殆んど吸収されない。本発明の目的は治療費が適当となる様カルシトニンの生物有効度を増加できる薬剤の発見にある。従来技術は鼻用調合物中に表面活性剤を使用することによつてある薬剤が鼻に吸収されることが認められている。例えはインシュリンやペプチドは表面活性剤含有液中で使えば吸収速度がよくなると発見されている。

今や過カルシウム血症、ページェット病および骨代謝作用の他の病気が本質的成分として吸収助剤又は緩衝剤を含む鼻用調合物中に含むカルシトニンの鼻内部への応用によつて便利に治療できることが発見されたのである。これらの調合物は鼻内部に応用すると粘膜をとおしてよく吸収されるが長期間使用にも刺戟又は不快感をおこさない。

本発明はカルシトニン活性をもつペプチドと上記病気を

るカルシトニンの注射投与は短期治療には当然であるが、長期間カルシトニン治療を要する患者へのカルシトニン注射投与は重大問題がある。医師が長期間カルシトニン投与をすることは患者に経費がかかるだけでなく苦痛であり不便である。カルシトニンは胃腸管内で消化液によつて破壊されるので患者に経口投与もできない。

前記のことを考えれば必要な長期カルシトニン治療条件に耐える患者へのちがつたカルシトニン投与法に対して強い要望があることは明らかである。

従来鼻用調合物は知られている。一般に鼻用調合物は水中油又は油中水乳濁液又は懸液又は植物油の様な粘膜に使用するに適した油性溶媒基本物質およびそれに可溶性の1又は2以上の化学薬品より成る。この調合物は普通鼻の粘膜をとおして血液流に吸収され病状を緩和する目的の活性薬剤1又は2を含む。

トランスエフリセリアル (transethilithelial) を作用によつて調節する吸収助剤を含む鼻用調合物の鼻内部へ応用することより成る高血清カルシウムを特徴とする病気にかかつてゐる哺乳動物の治療法に関する。

本発明によればカルシトニンは溶液、軟膏又はゲルの様な新規の投薬形によつて哺乳動物に投与される。

カルシトニンは分子のアミノ末端基に1-7において2サルファイド結合をもつ3-2アミノ酸のペプチドホルモンである。これらの2サルファイド結合をもつ第1-7アミノ酸は活性には重要と思われこの結果は種から種に保存される。本明細書で使うカルシトニンは自然にあるホルモンの1種に対応する構造をもち自然に又は合成的に生成されるペプチドのみならずカルシトニン活性をもつ関連ペプチドをも意味する。

本発明の調合物中のカルシトニンの量は製法、使用カル

シトニンの特定種又は活性および調合物によつて治療される状態又は病気の様な種々の要素によつて変る、一般にその濃度はカルシトニンの全身投与用組成物における濃度より幾分高い、濃度1乃至150  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、好ましくは2乃至30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ にてよい結果がえられることがわかつてゐる。カルシトニンの投与量も全身的投与の場合と少し異なる。人間患者の場合例えは0.7乃至7.0  $\mu\text{g}$ 、特に1乃至2.5  $\mu\text{g}$ が普通1回投与に適当であり医師が必要量として反復され、この投薬量は体重キログラム当り一般に約0.01乃至1  $\mu\text{g}$ 、特に0.03乃至0.35  $\mu\text{g}$ に相当する（上記カルシトニンの濃度と投薬量は約4000国際単位/ $\mu\text{g}$ の効力をもつカルシトニンに適用され他の効力をもつカルシトニンについては比例調節できる）。

本発明により使われる稀釀液又は賦形剤は水性でも非水性でもよい。非水性の場合稀釀剤群は生理学的に許容され

低く保たれる。この表面活性剤には次のものがある：

- a. ナトリウム タウロコレイト、ナトリウム コレイト、ナトリウム デオキシコレイトおよびナトリウム グリコレイトの様な胆汁塩；
- b. エチレンオキサイド および 第4級アンモニウム化合物との長鎖アミン結合物の様な陽イオン剤、例えはセチルトリメチルアンモニウム ブロマイド およびドシルジメチルアンモニウム ブロマイド；
- c. アルキルベンゼンスルフォネイト、N-アシル- $n$ -アルキルタウレイト、 $\alpha$ -オレフィンスルフォネイト、硫酸化粉状第1アルコールおよび硫酸化ポリオキシエチレン化直鎖アルコールの様な陰イオン剤；
- d. ポリオキシエチレン化アルキルフェノール、ポリオキシエチレン化直鎖アルコール、天然脂肪酸のグリセロルエステルを含む長鎖カルボン酸エステル、プロピレン

る極性溶媒である、この形の好ましい化合物は適當な濃度のカルシトニン溶液をつくりうる様な化合物である。この化合物の例にはジメチルズルフォキシド、ジメチルホルマミド、ジメチル ラウラミド、ポリヒドロキシ アルコール、植物油および磁油がある。必要ならばこの非水性媒質は水と混合して調合物の稀釀液を生成できる。しかし非水性稀釀剤の生理学的許容度は一般に水性媒質のそれより小さいので、好ましい稀釀剤は有機溶媒を加えない水である。

本発明の製法においてカルシトニンは吸収助剤と混合して使われる。この吸収助剤には生理学的に許容される表面活性剤がある。この活性剤の量は使用する特定表面活性剤によるが約0.01乃至約1.0%又はそれ以上、好ましくは約0.05乃至約1.0%でよい。この量のある程度以上では吸収の増加はえられない。また表面活性剤濃度が高すぎると鼻粘膜を刺激するので、量は一般にできるだけ

リコール、ソルビトールおよびポリオキシエチレン化ソルビトール エステルの様な非イオン剤；

- e. イミダゾリン カルボキシスレイト、スルフォネイト等の様な両性剤；および
- f. ホスホ デジル コリン等の様なホスホリビット。

本発明の調合物は0.01乃至0.5M、好ましくは0.05M乃至0.2Mの範囲のりん酸塩又は酢酸塩緩衝剤を含むとい。この濃度は稀釀液又は賦形剤中にとけたカルシトニンの安定を保つに有効と知られている。

本発明の調合剤は他の添加物、例えは酸化防止剤、安定剤、強直性調節剤、粘性賦与剤、保存剤等を加えてよい。これらの添加物濃度は使用特定添加物と重む結果によつて異なる。一般にこれら添加物濃度は次の範囲内である：

添加剤	% w/v	保存剤	% w/v
酸化防止剤	0.01 — 0.2	ベンザルコニウム クロライド	0.004 — 0.02
安定剤	0.01 — 2.0	ジナトリウム エチレンジアミンテトラアセテイト	0.01 — 0.2
強直性調節剤	0.01 — 0.5	シメロサル	0.001 — 0.01
粘性賦与剤	0.1 — 2.0	クロロブタノール	0.5 — 1.0
保存剤	0.001 — 2.0	メチルおよび(又は)プロピル パラベン	0.01 — 0.2

添加剤の種類と濃度の使用は熟練者の能力範囲内であるが、同様の目的の調剤中に一般に使われる2種添加剤の例として次の数が役に立つであろう：

加成分を加える。

代表的鼻内部用調合剤の例は下記のとおりである。しかしこの実施例は単に例証のためのものであつて、本発明の多くの修正法がこの技術分野の知識ある者には明らかであろうから、実施例によつて本発明が真意又は範囲のいづれにおいても限定されると解釈すべきではないのである。

実施例 1	% w/v
カルシトニン	0.009
ナトリウム タウロコレイト	0.5
ゼラチン	1.0
精製水を加えて	100 とする。

実施例 2	% w/v
カルシトニン	0.009
ミラノール C 2 M	1.0
ゼラチン	1.0
精製水を加えて	100 とする。

粘度剤	% w/v
メチルセルロース	0.1 — 2.0
ヒドロキシエチル セルロース	0.1 — 2.0
ヒドロキシプロピル セルロース	0.1 — 2.0
ポリビニルビロリドン	0.5 — 2.0

本発明の調合剤製造ではカルシトニンを賦形剤又は稀釈液にとかした後製薬工業で知られた一般調合法によつて添

実施例 3	% w/v
カルシトニン	0.009
ミラノール C 2 M	0.05
酢酸ナトリウム・3H <sub>2</sub> O	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

実施例 4	% w/v
カルシトニン	0.009
ポリソルベイト 80	1.0
酢酸ナトリウム・3H <sub>2</sub> O	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

実施例 5	% w/v
カルシトニン	0.003
Brij 30	1.0
酢酸ナトリウム・3H <sub>2</sub> O	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

## 実施例 6

	%, w/v
カルシトニン	0.009
Myr 59	1.0
酢酸ナトリウム	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

## 実施例 8

	%, w/v
カルシトニン	0.009
ナトリウム タウロコレイト	0.5
酢酸ナトリウム・3H <sub>2</sub> O	1.36
酢酸	0.6
ベンザルコニウム クロライド	0.01
ジナトリウム エチレンジアミン テトラアセタイト	0.1

## 実施例 7

	%, w/v
カルシトニン	0.009
ミラノール C 2 M	1.0
りん酸ナトリウム	2.40
くえん酸	0.34
チメラゾール	0.002
精製水を加えて	100 とする。

## 実施例 9

	%, w/v
カルシトニン	0.009
ナトリウム タウロコレイト	0.5
酢酸ナトリウム・3H <sub>2</sub> O	1.36
酢酸	1.36
クロロブタノール	0.1
フェネチルアルコール	0.2
精製水を加えて	100 とする。

## 実施例 10

	%, w/v
カルシトニン	0.003
ミラノール C 2 M	1.0
りん酸ナトリウム	2.40
くえん酸	0.34
チメラゾール	0.002
精製水を加えて	100 とする。

上の調合剤に使うゼラチンは製薬用に製造され、また普通ペプチド用稀釈剤として使われる標準ヒドロリビッド動物ゼラチンである。

本発明によりカルシトニンは吸収助剤を含む賦形薬と共に鼻内部に投与でき、吸収助剤を含まないカルシトニンの投与によつてえられる結果よりもかなりよい結果がえられる。

次の研究は本発明の調合剤中のカルシトニンの生物利用

度、カルシトニンの鼻吸収の吸収助剤濃度への依存度およびカルシトニンの吸収助剤存在における安定性を調べるために行なわれた。

## 工程成績表

体重150-250gの雄ねずみを秤りナトリウムペントバルビタール50mg/kgを腹腔内注射して麻酔した。一旦麻酔されたら鼻口蓋を膜で閉塞した。動物を5-7匹無秩序に1群とし試験する鼻用調合剤数の群をつくつた。研究中必要に応じて追加ペントバルビタール麻酔薬を投与した。

試験物質投与前に25G 5/8インチ針を使って心臓穿刺により採血した。1ml注射器に連結したポリエチレン管(P.E.20、ニュージャージー州モンマウスジヤンクション、ピーターソン テクニツクス)を使って鮫カルシトニン含有表面活性剤溶液50μlを鼻中隔に滴注した。管は

約1cm鼻中隔中に挿入した。鼻滴注後1時間と3時間目に

心臓穿刺により再採血した。

### 生化学分析

血液試料を室温でかたませた後30-60分凍結させて最大凝血退縮をえた。試料を4°Cで5000 rpmにおいて10分間遠心分離させた。(カリフォルニア州 バロアルトのベックマン インストルメンツのベックマン型J2-21) 血清カルシウムをカルセット(メリーランド州サドベリーのプレシジョン システムズ 4008型)を用いて定量した。

### データー分析

0、1および3時間血清カルシウム値を平均±標準偏差値として表わした。また予処理値(0時間)からの1および3時間における絶対変化および変化パーセントも計算した。統計分析は0と1時間、0と3時間および1と3時間

における血清カルシウム値を試験を用いて比較した。

### 実施例 1.1

本実施例は、(a)カルシトニン単独投与；(b)カルシトニンを種々の吸収助剤を含む調合物中に入れ投与；および(c)カルシトニンを含まない調合物投与の場合の上記工程成績表によりえられた血液試料中の血清カルシウム減少を示している。表1でえた結果を示している。

表 1

カルシトニンU/kg体重	試験剤/表面活性剤	0時間	服用後時間		
			1時間 $\text{mg}/\text{dL}$	3時間 $\text{mg}/\text{dL}$	減少率 3時間/1時間
2U 1%ゲル		8.8	9.5	なし	9.9
5U 1%ゲル		8.5	7.9	7.1	9.5
10U 1%ゲル		9.2	7.6	17.4	9.7
10U 0.1Mアセティト		8.8	6.3	28.4	9.0
-1%ゲル 1%ミラノール C2M <sup>(a)</sup>		8.9	8.8	なし	9.2
-1%ゲル 1%タウロコレート		9.1	9.5	なし	9.8
5U 1%ゲル 1%ミラノール C2M <sup>(a)</sup>		8.9	6.7	24.7	7.6
8.8		8.8	6.5	26.1	8.5
8.7		8.7	6.8	21.8	8.9
5U 0.1Mアセティト 1%ミラノール C2M <sup>(a)</sup>		8.7	6.8	21.8	8.9
10U 1%ゲル 1%ミラノール C2M <sup>(a)</sup>		9.5	6.1	35.8	8.8
9.1		9.1	7.5	17.6	6.6
8.9		8.9	7.1	20.2	7.1
10U 0.1Mアセティト 1%ミラノール C2M <sup>(a)</sup>		9.3	6.1	34.4	6.5
9.2		9.2	6.8	26.1	8.4
3U 1%ゲル 1%タウロコレート		9.1	7.0	23.1	6.4
10U 1%ゲル 1%タウロコレート		9.3	7.1	23.7	6.3
8.6		8.6	6.1	29.1	5.9
10U 0.1Mアセティト 1%タウロコレート		9.1	6.5	28.6	5.7
3U 1%ゲル 1%トウイーン 8.0 (ボリソルペイト 8.0)		8.3	6.2	25.3	8.7
8.9		8.9	7.1	20.2	9.2
10U 1%ゲル 1%トウイーン 8.0 (ボリソルペイト 8.0)		8.7	6.6	24.2	7.3
8.9		8.9	6.7	24.7	8.4

表 I (つづき)

カルシトニン U / Kg 体重 賦形剤 / 表面活性剤	0 時間 mg / dl	服用後時間			
		1 時間 mg / dl	%	3 時間 mg / dl	%
3 U 1 % ゲル 0.5 % ベンザルコニウム クロライド	8.7 8.9	5.9 6.5	32.2 26.9	6.3 9.0	27.6 なし
10 U 1 % ゲル 0.5 % ベンザルコニウム クロライド	8.5 9.0	7.2 6.0	15.3 33.3	7.9 6.2	7.1 31.0
3 U 1 % ゲル 1 % サボニン (サボギン グリコシド)	8.6	7.3	15.1	7.5	15.1
10 U 0.1 アセテイト 1 % NaL Saf	8.7	6.5	25.9	6.1	6.9
10 U 0.1 アセテイト 1 % Brij 50 (ポリオキシエチレン(4)ラクリルエーテル)	8.7	6.5	25.9	6.5	25.9
10 U 0.1 M アセテイト 1 % Myrij 59 (ポリオキシエチレン(100)ステアレート)	8.5	6.2	27.1	8.4	1.2
10 U 0.1 M アセテイト 1 % トウイーン 80	8.7	7.5	13.8	7.1	18.4
10 U 0.1 M アセテイト 1 % Aer OT (ナトリウム ジオクチル スルホスルホキシネイト)	9.1	6.6	27.5	7.6	16.5

註(1) ジカルボキシル化脂肪性イミダゾリン 又は  
ジカルボキシル ココナツト 誘導体。

## 実施例 1.2

表 II に示した結果を示している。

本実施例は調合物中の吸収助剤濃度による鼻内部吸収増  
加を示すものである。

えられた結果を表 II に示している。

10 U カルシトニン / Kg 体重 0.1 M アセテイト の他 VC タウロコロイド量	0 時間 mg / dl	1 時間		3 時間	
		mg / dl	%	mg / dl	%
1 %	9.1	6.5	28.6	5.7	37.4
0.5 %	9.0	6.1	32.2	7.5	16.6
0.25 %	9.6	6.8	25.3	7.4	18.2
0.1 %	8.9	6.5	27.0	8.3	6.7
0.05 %	9.0	7.6	15.0	8.7	5.3

表 III

1 % ゲル 中 10 U カルシトニン ミラノール C 2 M 混合	0 時間 mg / dl	1 時間		3 時間	
		mg / dl	%	mg / dl	%
初め	8.9	7.1	20.2	7.1	20.2
2 過間 室温	9.1	7.2	20.9	6.4	29.7
4 過間 //	9.1	6.0	34.1	6.9	24.2
1 % トウイーン 80 (ポリソルベート 80) 混合					
初め	8.9	6.7	24.7	8.4	5.6
2 過間 室温	8.8	6.7	23.9	8.3	6.0
4 過間 //	8.8	6.3	28.4	6.7	23.9

## 実施例 1.3

特許出願人 アーマー フアーマシュー ティカル カンパニー

本実施例は本発明の調合剤中のカルシトニンが室温貯蔵  
においてその活性を保持することを示している。

代理人弁理士 川津 良治

齊藤 武彦



**Europäisches Patentamt**  
**European Patent Office**  
**Office européen des brevets**

⑯

⑯ Publication number:

⑯ 0 1 1 5 6 2 7  
A 1

⑯

## EUROPEAN PATENT APPLICATION

⑯ Application number: 83113070.3

⑯ Int. Cl.: A 61 K 37/02

⑯ Date of filing: 23.12.83

⑯ Priority: 29.12.82 US 454128

⑯ Applicant: Armour Pharmaceutical Company, 303 South Broadway, Tarrytown New York 10591 (US)

⑯ Date of publication of application: 15.08.84  
Bulletin 84/33

⑯ Inventor: Mufson, Daniel, 24 Hillside Drive, Thiells, N.Y.  
(US)  
Inventor: Hanson, Musetta A., 1 Consulate Drive,  
Tuckhoe, N.Y. (US)

⑯ Designated Contracting States: AT BE CH DE FR GB IT  
LI LU NL SE

⑯ Representative: Patentanwälte Grünecker, Dr.  
Kinkeldey, Dr. Stockmair, Dr. Schumann, Jakob, Dr.  
Bezold, Meister, Hilgers, Dr. Meyer-Pisth,  
Maximilianstrasse 58, D-8000 München 22 (DE)

⑯ Enhancement of intranasal absorption of calcitonin by formulation with surfactants.

⑯ A pharmaceutical composition for the treatment of disorders of bone metabolism which comprises an aqueous or non-aqueous medium suitable for intranasal administration and containing a therapeutically effective amount of calcitonin and a surface active agent.

EP 0 1 1 5 6 2 7 A 1

0115627

- 7 -

1

ENHANCEMENT OF INTRANASAL ABSORPTION OF  
CALCITONIN BY FORMULATION WITH SURFACTANTS

5

The present invention relates to a novel method of administering calcitonin to patients and to formulations adapted for nasal administration.

10

Calcitonin is a polypeptide hormone isolated from different organs in different species, including man and salmon, or obtained via synthetic routes. Calcitonin is recognized as being effective in diminishing hypercalcemia and decreasing plasma phosphate concentrations in patients with hyperparathyroidism, idiopathic hypercalcemia of infancy, vitamin D intoxication, and osteolytic bone metastases. While direct renal effects and actions on the gastrointestinal tract are recognized, calcitonin is best known for its effect on bone. Its use has proved to be effective in diseases characterized by increased skeletal resorption and abnormal bone formation, such as occurs for example, in Paget's disease.

20

The method of administration of calcitonin is predominantly by injection, although efforts were made in the prior art to use other modes of administration, especially for the treatment of localized conditions. While injectable administration by physicians of calcitonin is proper for short-term therapy, administration of calcitonin by injection to patients in need of long-term calcitonin therapy has a serious problem. Not only is it costly to patients to have physicians do the administration of calcitonin for extended periods of time but it is also painful and inconvenient. Nor

25

30

35

0115627

1 can calcitonin be given orally to patients as it will be  
destroyed by the digestive juices in the gastrointestinal  
tract.

5 In view of the foregoing, it is apparent that a  
serious need exists for a different route of delivery of  
calcitonin to patients suffering from conditions that require  
prolonged calcitonin therapy.

10 Nasal preparations are known in the prior art.  
Generally, nasal preparations comprise an oil-in-water or  
water-in-oil emulsion or an oily solvent base suitable for  
use on the mucous membranes, such as mineral or vegetable  
oils and fatty acid esters and one or more chemicals which  
are soluble in the base. Such preparations usually contain  
one or more active drugs intended to alleviate or mitigate a  
15 condition in the body by their adsorption into the blood  
stream through the mucous membrane of the nose.

20 While small molecules such as propranolol are  
efficiently absorbed intranasally, large molecules such as  
calcitonin show little if any absorption. The purpose of  
this invention is to find agents capable of increasing the  
bioavailability of calcitonin so that cost of therapy is  
reasonable. The prior art has also recognized that the nasal  
absorption of certain drugs may be facilitated by the use of  
25 surfactants in such nasal preparation. For example, insulin  
and polypeptides were found to have an improved absorption  
rate when used in a solution containing a surfactant.

30

35

1 It has now been found that hypercalcemia, Paget's  
disease and other disorders of bone metabolism can be  
advantageously treated by intranasal application of  
calcitonin contain in a nasal preparation having an  
5 absorption promoter and a buffer as essential ingredients.  
Such preparations possess enhanced absorption across the  
nasal mucosa when applied intranasally, but causes no  
irritation or discomfort on extended use.

10 The present invention relates to a method for the  
treatment of a mammal suffering from a disorder characterized  
by high serum calcium which comprises intranasal application  
of a nasal preparation containing a peptide having calcitonin  
activity and an absorption promoting agent to effect control  
of said disorders by transepithelial action.

15 According to the invention, calcitonin is  
intranasally administered to a mammal via a novel dosage  
form, such as a solution, ointment, or gel.

20 Calcitonin is a peptide hormone of 32 amino acids  
with a disulfide bond at 1-7 in the amino terminus of the  
molecule. These first seven amino acids with the disulfide  
bond seem essential for activity and this sequence is  
preserved from species to species. Calcitonin, as used  
herein, means not only peptides having a structure  
corresponding to one of the naturally occurring hormones, and  
25 which may be naturally or synthetically produced, but also  
related peptides having calcitonin activity.

30 The amount of calcitonin contained in the  
preparation of the present invention may vary according to  
various parameters, such as the nature of the preparation,

1 the particular kind or activity of calcitonin employed and  
the condition or ailment to be treated with the preparations.  
In general, the concentrations are somewhat higher than those  
found in compositions for the systemic administration of  
5 calcitonin. It has been found that a concentration level of  
1 to 150 micrograms per ml and preferably 2 to 30 micrograms  
per ml achieve the desired result. The levels of  
administration of calcitonin also vary somewhat from those  
used systemically. In the case of human patients, for  
10 example, amounts of from 0.7 to 70 micrograms, particularly  
from 1 to 25 micrograms, are usually appropriate for single  
dosages given and repeated as often as the physician finds it  
necessary and such dosages correspond generally to about 0.01  
to 1 micrograms, and particularly 0.03 to 0.35 micrograms,  
15 per kilogram of body weight. (The above concentration and  
dosage levels of calcitonin apply to calcitonin with a  
potency of about 4000 International Units per mg and may be  
adjusted pro rata for calcitonin of other potencies.)

20 The diluent base or vehicle used in accordance with  
the present invention may be non-aqueous or aqueous. In the  
former case the group of diluents is the physiologically  
acceptable polar solvents. Preferred compounds of this type  
are those with which it is possible to make a solution of  
adequate concentration of dissolved calcitonin. Examples of  
25 these compounds include dimethylsulphoxide, dimethyl  
formamide, dimethyllauramide, polyhydroxy alcohols, vegetable  
and mineral oils. If desired, such non-aqueous media may be  
mixed with water to form the diluent of the preparation.

30

35

1 However, the degree of physiological acceptability of the  
non-aqueous diluents is generally less than that of aqueous  
media and the preferred diluent is therefore water without  
the addition of organic solvents.

5 In the preparations of the present invention,  
calcitonin is used in combination with an absorption  
promoter. Such absorption promoters include the  
physiologically acceptable surface active agents. The amount  
of such an agent may be in the range from about 0.01 to about  
10 10% w/v or higher and preferably about 0.05 to about 1.0%  
w/v, the amount depending on the specific surfactant used.  
The amount is generally kept as low as possible since above a  
certain level no further enhancement of absorption can be  
achieved and also too high of a surfactant level may cause  
15 irritation of the nasal mucosa. Such surface active agents  
include:  
a. Bile salts, such as sodium taurocholate, sodium cholate,  
sodium deoxycholate and sodium glycholate;  
b. Cationics, such as the long chain amine condensates with  
20 ethylene oxide and quaternary ammonium compounds, for example  
cetyl trimethyl ammonium bromide and dodecyl dimethyl  
ammonium bromide;  
c. Anionics, such as alkylbenzenesulfonates,  
N-acyl-n-alkyltaurates,  $\alpha$  -olefin sulfonates, sulfated  
25 linear primary alcohols and sulfated polyoxyethylenated  
straight-chain alcohols;  
d. Nonionics, such as polyoxyethylenated alkylphenols,  
polyoxyethylenated straight chain alcohols, long chain  
carboxylic acid esters including glycerol ester of natural  
30 fatty acids, propylene glycol, sorbitol, and  
polyoxyethylenated sorbitol esters;

- 1 e. Amphoteric, such as imidazoline carboxyslates, sulfonates and the like; and
- 1 f. Phospholipids, such as phosphotidyl choline and the like.

5 The preparations of the present invention preferably contain a phosphate or acetate buffer in the range of 0.01 M to 0.5 M and preferably in the range of 0.05 M to 0.2 M. This concentration was found effective to provide stability of the dissolved calcitonin in the diluent base or vehicle.

10 The preparations of the present invention may also contain other additives, such antioxidants, stabilizers, tonicity adjusters, viscosity builders, preservatives, and the like. The concentration of these additives may vary according to the particular additive used and the desired 15 result sought. In general, the concentrations for these additives will be in the range as follows:

	<u>Additives</u>	<u>% W/V</u>
	Antioxidants	0.01 - 0.2
	Stabilizers	0.01 - 2.0
20	Tonicity Adjuster	0.01 - 0.5
	Viscosity Builders	0.1 - 2.0
	Preservatives	0.001 - 2.0

25 While the use of the kind and concentration of additives will be well within the ability of the skilled artisan, the following will serve as illustration for two additives generally used in pharmaceutical preparations intended for similar purposes.

30

35

0115627

	<u>Preservatives</u>	<u>% W/V</u>
1	Benzalkonium chloride	0.004 - 0.02
	Disodium Ethylene	
	Diamine Tetraacetate	0.01 - 0.2
5	Thimerosal	0.001 - 0.01
	Chlorobutanol	0.5 - 1.0
	Methyl and/or Propyl Paraben	0.01 - 0.2
	Phenethyl Alcohol	0.25 - 0.75
10	Cyclohexidine	0.01 - 0.1

	<u>Viscosity Agents</u>	<u>% W/V</u>
	Methyl Cellulose	0.1 - 2.0
	Hydroxyethyl Cellulose	0.1 - 2.0
15	Hydroxypropyl Cellulose	0.1 - 2.0
	Polyvinylprrolidone	0.5 - 2.0

20 In preparing the formulations of the present invention, calcitonin is dissolved in the vehicle or dilutent after which the additional ingredients are added in accordance with customary formulation procedures known in the pharmaceutical industry.

25 Examples of typical intranasal formulations are set forth below. However, it is to be understood that these examples are given by way of illustration only and are not to be construed as limiting the invention either in spirit or in scope as many modifications will be apparent to those skilled in the art.

30

35

1	<u>EXAMPLE 1</u>	% W/V
5	Calcitonin	0.009
	Sodium Taurocholate	0.5
	Gelatin	1.0
	Purified Water Q.S.	100
10	<u>EXAMPLE 2</u>	% W/V
15	Calcitonin	0.009
	Miranol C2M	1.0
	Gelatin	1.0
	Purified Water Q.S.	100
20	<u>EXAMPLE 3</u>	% W/V
25	Calcitonin	0.009
	Miranol C2M	0.05
	Sodium Acetate .3H <sub>2</sub> O	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Purified Water Q.S.	100
30	<u>EXAMPLE 4</u>	% W/V
	Calcitonin	0.009
	Polysorbate 80	1.0
	Sodium Acetate .3H <sub>2</sub> O	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Purified Water Q.S.	100

1

	<u>EXAMPLE 5</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.003
5	Brij 30	1.0
	Sodium Acetate .3H <sub>2</sub> O	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Purified Water Q.S.	100

10

	<u>EXAMPLE 6</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.009
	Myrj 59	1.0
15	Sodium Acetate	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Purified Water Q.S.	100

15

	<u>EXAMPLE 7</u>	<u>% W/V</u>
20	Calcitonin	0.009
	Miranol C2M	1.0
	Sodium Phosphate	2.40
	Citric Acid	0.34
	Thimerasol	0.002
25	Purified Water Q.W.	100

25

30

35

1

EXAMPLE 8

% W/V

5

Calcitonin	0.009
Sodium Taurocholate	0.5
Sodium Acetate .3H <sub>2</sub> O	1.36
Acetic Acid	0.6
Benzalkonium Chloride	0.01
DiSodium ethylenediamine tetraacetate	0.1
Purified Water Q.S.	100

10

15

EXAMPLE 9

% W/V

20

Calcitonin	0.009
Sodium Taurocholate	0.5
Sodium Acetate .3H <sub>2</sub> O	1.36
Acetic Acid	1.36
Chlorobutanol	0.1
Phenethyl Alcohol	0.2
Purified Water Q.S.	100

25

EXAMPLE 10

% W/V

30

Calcitonin	0.003
Miranol C2M	1.0
Sodium Phosphate	2.40
Citric Acid	0.34
Thimerasol	0.002
Purified Water Q.S.	100

1        The gelatin used in the above formulations is a  
standard hydrolyzed animal gelatin prepared for  
pharmaceutical use and routinely used as a diluent for  
peptides.

5        According to the present invention, it has been  
found that calcitonin can be administered intranasally from a  
vehicle containing absorption promoters with results  
considerably superior to those obtained with the  
administration of calcitonin without absorption promoters.  
10      The following studies were undertaken to examine the  
bioavailability of calcitonin from the formulations of the  
present invention, dependency of intranasal absorption of  
calcitonin on the level of absorption promoters and stability  
of calcitonin in the presence of absorption promoters.

15      PROTOCOL

20      Male rats weighing 150-250 g were weighed and  
anesthetized with sodium pentobarbital, 50/mg/kg. by  
intraperitoneal injection. Once anesthetized the  
nasopalatine process was occluded with glue. The animals  
were randomly placed into groups of 5-7 rats with the number  
of groups being dependent upon the number of intranasal  
formulations to be tested. Supplemental pentobarbital  
anesthesia was administered as necessary throughout the  
study.

25      Prior to administration of the test material, blood  
was collected by cardiac puncture using a 25G 5/8" needle.  
Fifty (50) microliters of the salmon calcitonin-containing  
surfactant solution was then instilled into the nasal septum  
using polyethylene tubing (PE 20, Peterson Technics, Monmouth  
Junction, N.J.) connected to a 1 ml syringe; the tubing was  
30      inserted about 1 cm into the nasal septum. One and three

0115627

1 hours after nasal instillation, blood was again collected by  
cardiac puncture.

Biochemical Analysis

5 Blood samples were allowed to clot at room  
temperature and were then refrigerated for 30-60 minutes to  
provide maximum clot retraction. The samples were  
centrifuged at 4°C., 5000 rpm for 10 minutes (Beckman Model  
J2-21 Centrifuge, Beckman Instruments, Palo Alto, CA). Serum  
calcium was quantitated using a Calcette (Model 4008,  
10 Precision Systems, Sudbury, MA).

Data Analysis

Serum calcium values at 0, 1 and 3 hours were  
expressed as mean  $\pm$  standard deviation. In addition, the  
absolute change and the percent change from the pretreatment  
15 (0 time) value at 1 and 3 hours was also calculated.  
Statistical analysis consisted of comparison of the serum  
calcium values at 0 and 1 hour, 0 and 3 hours, and 1 and 3  
hours using a t test.

20

25

30

35

1

EXAMPLE 11

This example illustrates decrease in serum calcium in blood samples obtained in accordance with the above protocol when: a. calcitonin is administered alone; 5 b. calcitonin is administered in formulations containing various absorption promoters; and c. no calcitonin is present in the formulations.

Table 1 shows the result obtained.

10

15

20

25

30

35

1

20

5

30

35

5

10

TABLE I

Calcitonin U/kg body weight vehicle/surfactant	0 hour mg/dl	TIME AFTER DOSE			
		1 hour mg/dl	% decr.	3 hour mg/dl	% decrease
2U 1% Gel -	8.8	9.5	NONE	9.9	NONE
5U 1% gel -	8.5	7.9	7.1	9.5	NONE
10U 1% Gel -	9.2	7.6	17.4	9.7	NONE
10U .1M Acetate -	8.8	6.3	28.4	9.0	NONE
- 1% gel 1% Miranol C2N (1)	8.9	8.8	NONE	9.2	NONE
- 1% gel 1% Taurocholate	9.1	9.5	NONE	9.8	NONE
3U 1% Gel 1% Miranol C2M (1)	8.9	6.7	24.7	7.6	14.6
8.8	6.5	26.1	8.5	3.4	
8.7	6.8	21.8	8.9	2.3	
3U 0.1M Acet. 1% Miranol C2N (1)	8.7	6.8	21.8	8.9	2.3
10U 1% Gel 1% Miranol C2N (1)	9.5	6.1	35.8	8.8	7.4
	9.1	7.5	17.6	6.6	27.5
	8.9	7.1	20.2	7.1	20.2
10U 0.1M Acet. 1% Miranol C2N (1)	9.3	6.1	34.4	6.5	30.1
	9.2	6.8	26.1	8.4	8.7
3U 1% gel 1% Taurocholate	9.1	7.0	23.1	6.4	29.6
1.0U 1% gel 1% Taurocholate	9.3	7.1	23.7	6.3	32.3
	8.6	6.1	29.1	5.9	31.4
1.0U 0.1M Acet. 1% Taurocholate	9.1	6.5	28.6	5.7	37.4
3U 1% gel 1% Tween 80 (Polysorbate 80)	8.3	6.2	25.3	8.7	NONE
	8.9	7.1	20.2	9.2	NONE

(1) Dicarboxylated fatty imidazoline or dicarboxylic coconut derivative,

1

5

10

15

20

25

30

35

TABLE I (Cont'd.)

Calcitonin U/kg body weight vehicle/surfactant	0 hour mg/dl	TIME AFTER DOSE			% decrease
		1 hour mg/dl.	% decr.	3 hour mg/dl	
10U 1% gel 1% Tween 80 (Polysorbate)	8.7	6.6	24.2	7.3	16.1
3U 1% gel 0.5% Benzalkonium Chloride	8.9	6.7	24.7	8.4	5.6
10U 1% gel 0.5% Benzalkonium Chloride	8.7	5.9	32.2	6.3	27.6
3U 1% gel 1% Saponin (Sapogenin Glycoside)	8.9	6.5	26.9	9.0	NONE
10U 1M Acet. 1% NaL Saf	9.0	6.0	33.3	6.2	31.0
10U 1M Acet. 1% Brij 30	8.6	7.3	15.1	7.3	15.1
(Polyoxyethylene (4) lauryl ether)					
10U 1M Acet. 1% Myrij 59	8.5	6.2	27.1	8.4	1.2
(Polyoxyethylene (100) Stearate)					
10U 1M Acet. 1% Tween 80	8.7	7.5	13.8	7.1	18.4
10U 1M Acet. 1% Aer OT	9.1	6.6	27.5	7.6	16.5
(Sodium dioctyl sulfosuccinate)					

0115627

1

EXAMPLE 12

This example illustrates that the enhancement of intranasal absorption depends on the level of absorption promoter present in the formulation.

5

Table II shows the result obtained.

10

15

20

25

30

35

0115627

1

5

10

15

20

25

30

35

TABLE II

<u>10U Calcitonin/kilo in 0.1M Acetate with</u>	<u>0 hour mg/dl</u>	<u>1 hour mg/dl</u>	<u>3 hour mg/dl</u>
1% Taurocholate	9.1	6.5	28.6
0.5% "	9.0	6.1	32.2
0.25% "	9.1	6.8	25.3
0.1% "	8.9	6.5	27.0
0.05% "	9.0	7.6	15.5

10U calcitonin/kilo  
in 0.1M Acetate with  
1% Miranol C2N (dicarboxylic coconut derivative, sodium salt)  
0.5% "  
0.25% "  
0.1% "  
0.05% "

0115627

1

EXAMPLE 13

This example illustrates that calcitonin maintains its activity level in the formulations of the present invention on storage at room temperatures.

5

Table III shows the results obtained.

10

15

20

25

30

35

0115527

1

5

10

15

20

25

30

35

TABLE III

10U calcitonin in 1% gel with 1% Miranol C2M		0 hour mg/dl	1 hour mg/dl	3 hour mg/dl	%
initial		8.9	7.1	20.2	
2 wks @ RT		9.1	7.2	7.1	20.2
4 wks @ RT		9.1	6.0	6.4	29.7
10U calcitonin in 1% gel with 1% Tween 80 (Polysorbate 80)					
initial		8.9	6.7	24.7	
2 wks @ RT		8.8	6.7	23.9	5.6
4 wks @ RT		8.8	6.3	28.4	6.0
				6.7	23.9

1 What is claimed is:

1. A pharmaceutical composition for the treatment of disorders of bone metabolism which comprises an aqueous or non-aqueous medium suitable for intranasal administration and containing a therapeutically effective amount of calcitonin and a surface active agent.
- 5 2. The pharmaceutical composition of claim 1 further comprising a buffer.
- 10 3. The pharmaceutical composition of claim 2 wherein said buffer is from 0.01 to 0.5M.
- 15 4. The pharmaceutical composition of any of claims 1-3 further comprising an antioxidant, stabilizer, tonicity adjuster, viscosity builder, or a preservative.
5. The pharmaceutical composition of any of claims 1-4 wherein said medium contains from about 5 to about 150 micrograms calcitonin per ml of said aqueous medium.
- 15 6. The pharmaceutical composition of any of claims 1-5 containing from about 0.01 to about 10% w/v of the surface active agent.
- 20 7. The pharmaceutical composition of claim 2 wherein said buffer is a phosphate buffer.
8. The pharmaceutical composition of claim 2 wherein said buffer is an acetate buffer.
- 25 9. The pharmaceutical composition of any of claims 1-8 wherein said aqueous medium is a gel.
10. The pharmaceutical composition of any of claims 1-9 wherein said surface active agent is a dicarboxylated fatty imidazoline or sodium taurocholate, or a benzalkonium chloride.

30

35



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			EP 83113070.3
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int. Cl. ?)
A	<p>US - A - 4 241 051 (CHRISTIE et al.)</p> <p>* Claims 3,4,5,7-10; column 1, line 45 - column 4, line 46 *</p> <p>--</p>	1,6	A 61 K 37/02
A	<p>GB - A - 1 548 984 (CIBA-GEIGY AG)</p> <p>* Claims, especially claim 5; page 1, line 9 - page 3, line 66 *</p> <p>--</p>	1,2,5	
A	<p>DE - A1 - 2 254 061 (HOECHST AG)</p> <p>* Claim 1,4; pages 1,2 *</p> <p>-----</p>		
			TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int. Cl. ?)
			A 61 K 37/00
<p>The present search report has been drawn up for all claims</p>			
Place of search	Date of completion of the search	Examiner	
VIENNA	30-03-1984	STÖCKLMAYER	
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS		<p>T : theory or principle underlying the invention</p> <p>E : earlier patent document, but published on, or after the filing date</p> <p>D : document cited in the application</p> <p>L : document cited for other reasons</p> <p>&amp; : member of the same patent family, corresponding document</p>	
<p>X : particularly relevant if taken alone</p> <p>Y : particularly relevant if combined with another document of the same category</p> <p>A : technological background</p> <p>O : non-written disclosure</p> <p>P : intermediate document</p>			